

Действие фетальных тканей на метаболизм липидов при гипотиреозе в эксперименте

Effect of Fetal Tissue on Metabolism of Lipids at Experimental Hypothyrosis

Исследовано влияние введения фрагмента фетальной щитовидной железы человека, аллогенной плаценты и их комбинированного введения на метаболизм липидов при экспериментальном гипотиреозе. Полученные данные позволяют сделать вывод об эффективности применения продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса для нормализации липидного спектра при гипофункции щитовидной железы.

Ключевые слова: гипотиреоз, ксенотрансплантация, аллотрансплантация, холестерин, тироксин, трийодтиронин.

Досліджували вплив введення фрагмента фетальної щитовидної залози людини, алогенної плаценти та їх комбінованого введення на метаболізм ліпідів при експериментальному гіпотиреозі. Отримані дані дозволяють зробити висновок щодо ефективності використання продуктів ембріофетоплацентарного комплексу для нормалізації ліпідного спектра при гіпофункції щитовидної залози.

Ключові слова: гіпотиреоз, ксенотрансплантація, алотрансплантація, холестерин, тироксин, трийодтиронін.

The effect of introduction of human fetal thyroid gland fragment, allogenic placenta and combined introduction of human xenogenic fetal thyroid gland and allogenic placenta on lipid metabolism under experimental hypothyrosis has been investigated. The data obtained enable to conclude about the application efficiency of embryofetoplacental complex products for lipid spectrum normalisation under thyroid gland hypofunctions.

Key-words: hypothyrosis, xenotransplantation, allotransplantation, cholesterol, thyroxin, triiodothyronine.

Метаболические процессы контролируются нейроэндокринной системой, благодаря этому в организме поддерживается гомеостаз и обеспечивается быстрая ответная реакция на изменения со стороны внешней среды, что способствует эффективной адаптации организма. Нарушения функциональной активности какой-либо железы внутренней секреции приводит к изменению метаболических процессов и, как следствие, дисбалансу в системе гомеостаза. Особую роль в обеспечении адаптации играют гормоны, синтезируемые щитовидной железой, – тироксин и трийодтиронин, которые влияют на широкий спектр метаболических и физиологических процессов. Дисфункция щитовидной железы – одна из наиболее часто встречающихся эндокринных патологий – в большинстве случаев ассоциирована с нарушениями обмена липидов. Тиреоидные гормоны играют ключевую роль в метаболизме холестерина, атерогенных и антиатерогенных фракций липопротеидов путем активации основных ферментов их метаболизма: лецитин-холестерол-ацилтрансферазы (этерифицирует свободный холестерин); печеночной липазы (регулирует количество наиболее антиатероген-

ного класса липопротеидов – липопротеидов высокой плотности (ЛПВП-2)) [13]; транспортного белка эфиров холестерина (осуществляет перенос эфиров холестерина во фракциях липопротеидов) [11]. Элиминация из кровотока липопротеидов происходит через апо В-, Е-рецепторы, синтез которых также контролируется тиреоидными гормонами [12].

В экспериментальном исследовании [5] мы показали, что атерогенный процесс, развивающийся на фоне послеоперационного гипотиреоза, эффективно корректируется введением ксеногенного фрагмента фетальной щитовидной железы. Вероятно, это связано с дополнительным поступлением тиреоидных гормонов и биологически активных веществ в кровоток из ткани введенного биологического материала.

Известно, что плацента содержит широкий спектр биологически активных веществ различной природы [1, 4], которые после ее введения в организм реципиента способны нормализовать функциональную активность скомпрометированного органа или систем, влияя как на сам орган, так и, возможно, опосредованно – через гипоталамо-гипофизарную систему. В результате эксперимен-

тальных исследований определена высокая эффективность терапии аллогенной плацентой при заболеваниях различного генеза, в частности в работе [3] на модели экспериментального атеросклероза установлен выраженный антиатерогенный эффект аллогенной плаценты.

Установлено, что тиреостатик Мерказолил в течение 2-х месяцев подавляет функциональную активность щитовидной железы, что приводит к достоверному снижению общего, свободного тироксина и общего трийодтиронина [6]. В то же время наблюдается достоверное увеличение содержания свободного тироксина в сыворотке крови экспериментальных животных, что может быть следствием ответной адаптационной реакции системы периферического дейодирования, направленной на поддержание тиреоидного гомеостаза в условиях подавления функциональной активности щитовидной железы.

Цель работы – изучение влияния введения ксеногенного фрагмента фетальной щитовидной железы человека, аллогенной плаценты и их комбинированного введения на метаболизм липидов у крыс при дисфункции щитовидной железы.

Материалы и методы

Работу выполняли на 62 беспородных крысах-самцах 4–5-месячного возраста массой 230–260 г. В качестве биологического материала использовали фрагменты ксеногенной фетальной щитовидной железы человека (ЩЖ) 18–22 недель гестации массой 150 мг и аллогенной плаценты (Пл) крыс массой 180 мг, полученную от беременных самок на 15-е сутки беременности. Материал замораживали с криопротектором ДМСО по программам, разработанным в ИПКиК НАНУ [2, 7]. Дисфункцию ЩЖ животных вызывали введением в течение 2 месяцев с питьевой водой фармацевтического препарата Мерказолил (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина) в концентрации 500 мг действующего вещества (Мерказолила) на 1 л воды [8, 9]. Затем прием препарата был отменен. Данные этой группы животных служили контролем.

С целью оценки влияния введения фетальных тканей животные были разделены на следующие экспериментальные группы: 1 – интактные 4- и 8-месячные животные; 2 – пик модели экспериментального гипотиреоза; 3 – отмена тиреостатика без введения фетального материала (контроль); 4 – введение ЩЖ в день отмены тиреостатика; 5 – введение ЩЖ и Пл в день отмены тиреостатика; 6 – введение Пл в день отмены Мерказолила.

Биологический материал помещали под легким эфирным наркозом в подкожный карман в области холки. Животных всех экспериментальных групп

выводили из эксперимента через 7, 14 суток и 2 месяца после отмены тиреостатика и введения биологического материала.

Уровень общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицеридов (ТГ) и общих липидов (ОЛ) определяли в сыворотке крови с помощью наборов PLIVA-Lachema (Чехия). Для определения уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) использовали формулу, представленную в работе [10].

Цифровые данные (непараметрический метод Mann-Whitney и корреляционный анализ) обрабатывали в программе “StatGraphics 2.1”.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены данные о динамике содержания основных показателей липидного спектра в сыворотке крови животных в течение эксперимента. Результаты исследования показали, что через 2 месяца после приема Мерказолила в сыворотке крови животных наблюдалось достоверное увеличение содержания ОХС. В контрольной группе после отмены тиреостатика наблюдалось постепенное его снижение. К концу эксперимента этот показатель практически достигал исходного значения. После введения биологического материала содержание ОХС изменялось волнообразно: к 7 суткам – снижалось, к 14 суткам – повышалось и снижалось ко 2-му месяцу. Причем наиболее выражено такое изменение в группах 3 и 5, а менее – в группе 4 с комбинированным введением препаратов. К концу эксперимента в группах с введением биологического препарата этот показатель был ниже контрольного.

После 2-х месяцев приема тиреостатика содержание холестерина в атерогенной фракции липопротеидов (ХС ЛПНП) увеличивалось практически в 5 раз. После введения биологического материала данный показатель изменялся так же, как и ОХС: постепенное снижение в сыворотке крови контрольных животных (группа 2) и волнообразное изменение в экспериментальных группах, т.е. снижение к 7-м суткам, увеличение к 14-м суткам и дальнейшее снижение ко 2-му месяцу. Наиболее выраженные волнообразные колебания этого показателя, как и ОХС, наблюдались в группах 3 и 5.

После 2-х месяцев приема тиреостатика установлено снижение содержания холестерина антиатерогенной фракции липопротеидов (ХС ЛПВП). К 7-м суткам после отмены препарата и введения биологического материала этот показатель достигал исходного уровня только в группе 3, однако к 14-м суткам уровень ХС ЛПВП в этой группе снова снижался и к концу эксперимента не изменялся. В контрольной группе и группе 5 с введением Пл

к 7-м суткам этот показатель снижался, а к 14-м суткам увеличивался. В группе 4 с комбинированным введением препаратов через 7, 14 суток и 2 месяца содержание ХС ЛПВП практически не изменялось. В остальных экспериментальных группах с введением биологического материала через 2 месяца этот показатель снижался и оставался ниже исходного (интактного) практически на 50%. К концу эксперимента содержание ХС ЛПВП достигало исходного значения только в контрольной группе.

После 2-х месяцев приема Мерказолила содержание ТГ достоверно не изменялось, после отмены препарата в контрольной группе с 7-х суток оно незначительно снижалось и не изменялось в течение всего эксперимента. Выраженное достоверное снижение исследуемого показателя наблюдалось в группах 3 и 4. К 14-м суткам значение ТГ от предыдущих сроков исследования достоверно не отличалось. Через 2 месяца в контрольной группе этот показатель был достоверно ниже исходного, а в группе 5 достоверно превышал исходный. В группах с введением ЩЖ и комбинированным введением биологического материала данный показатель в указанный период достоверно не отличался от исходного.

Содержание ОЛ через 2 месяца после приема тиреостатика достоверно увеличилось практически в 2 раза. К 7-м суткам после отмены препарата в контрольной группе и группах с введением биологического материала этот показатель снижался, причем наиболее интенсивно в группе 3. К 14-м суткам уровень ОЛ в группах 4 и 5 был достоверно выше исходного, в остальных группах он достоверно не отличался от исходного. Через 2 месяца содержание ОЛ соответствовало исходному только в контрольной группе, а в остальных

Таблица 1. Содержание ОХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, ТГ и ОЛ в сыворотке крови экспериментальных животных

№ п/п	Группы животных	ОХС, ммоль/л	ХС ЛПНП, ммоль/л	ХС ЛПВП, ммоль/л	ТГ, ммоль/л	ОЛ, г/л
1. Интактные животные						
1	4- месячные	2,53±0,16 (n=5)	0,46±0,13 (n=5)	1,89±0,19 (n=5)	0,88±0,03 (n=5)	2,12±0,21 (n=5)
2	8- месячные	*3 2,34±0,04 (n=3)	*3 0,97±0,02 (n=3)	*1 0,96±0,02 (n=3)	0,93±0,02 (n=3)	*1,3 3,09±0,07 (n=3)
2. Пик модели гипотиреоза						
3	Введение МК	*1 3,87±0,23 (n=5)	*1 2,49±0,21 (n=5)	*1 1,19±0,03 (n=5)	0,96±0,04 (n=5)	*1 4,13±0,34 (n=5)
3. Контрольная группа						
4	7 суток	3,29±0,53 (n=4)	*1 2,35±0,62 (n=3)	*1 1,06±0,09 (n=3)	0,78±0,07 (n=3)	*3 2,71±0,26 (n=5)
5	14 суток	*3 3,02±0,19 (n=7)	*3, 4 1,16±0,36 (n=6)	*3, 4 1,92±0,2 (n=7)	*1,3 0,75±0,03 (n=7)	*3 2,4±0,13 (n=7)
6	2 месяца	*3 2,74±0,13 (n=4)	*3, 4 0,71±0,14 (n=4)	*3, 4 1,89±0,06 (n=5)	*1, 3 0,69±0,01 (n=4)	*3 2,31±0,19 (n=4)
4. Введение ЩЖ						
7	7 суток	*3 2,81±0,11 (n=5)	*3, 4 1,12±0,41 (n=5)	*3, 4 1,95±0,24 (n=4)	*1, 3 0,67±0,04 (n=5)	*3, 4 2,01±0,25 (n=5)
8	14 суток	*1, 5, 7 3,72±0,04 (n=5)	*1, 7 2,22±0,24 (n=5)	*7 1,34±0,22 (n=5)	*3 0,78±0,02 (n=5)	*3 1,87±0,42 (n=5)
9	2 месяца	*3, 7, 8 2,24±0,18 (n=3)	*1, 3, 8 1,08±0,07 (n=3)	*1, 6, 7 0,99±0,23 (n=3)	*3, 6 0,84±0,06 (n=3)	*1, 7 3,24±0,5 (n=3)
5. Введение ЩЖ и Пл						
10	7 суток	*3 3,18±0,3 (n=5)	*1, 3 1,91±0,26 (n=5)	*1, 7 1,15±0,09 (n=5)	*1, 3, 4, 7 0,58±0,04 (n=5)	*3, 7 3,01±0,37 (n=5)
11	14 суток	*1, 3, 6, 10 3,28±0,15 (n=5)	*1 2,04±1,12 (n=5)	*1,5 1,11±0,06 (n=5)	*1, 3 0,63±0,06 (n=5)	*1, 3, 5, 8 3,15±0,23 (n=5)
12	2 месяца	*1, 3, 6, 10 1,98±0,11 (n=3)	*3, 10, 11 0,81±0,19 (n=3)	*1, 3, 6 0,96±0,07 (n=3)	*6, 10, 11 1,05±0,1 (n=3)	*1, 3 2,93±0,13 (n=3)
6. Введение Пл						
13	7 суток	*3 2,48±0,32 (n=4)	*1, 3 1,37±0,39 (n=4)	*1, 7 0,94±0,09 (n=4)	*7, 10 0,85±0,08 (n=4)	*3 2,74±0,27 (n=4)
14	14 суток	*1, 5 3,48±0,36 (n=4)	*1 1,91±0,4 (n=4)	*1, 11, 13 1,44±0,02 (n=4)	0,89±0,17 (n=3)	*1, 8 3,34±0,45 (n=4)
15	2 месяца	*3 2,33±0,005 (n=2)	*1, 3 1,13±0,005 (n=2)	*1, 3, 6 0,97±0,005 (n=2)	*1, 3, 6 1,14±0,005 (n=2)	*1 3,66±0,005 (n=2)

Примечание: * – различия достоверны, цифрой указана группа, по отношению к которой различия достоверны.

группах оно оставалось достоверно выше исходного.

Результаты проведенного исследования показывают, что на фоне приема тиреостатика достоверно увеличивалось содержание ОЛ в сыворотке крови. Жирные кислоты являются субстратом для синтеза ТГ, которые в основном содержатся в хиломикронах и липопротеидах очень низкой плотности. Однако увеличение содержания ТГ в сыворотке крови не было установлено. Следовательно, можно предположить, что в данном случае повышение содержания ОЛ или не связано с увеличением содержания жирных кислот и происходит за счет увеличения содержания других фракций липидов, или гипотиреоидное состояние вызывает нарушение работы ферментов катаболизма липидов.

На основании полученных данных о содержании липидов в сыворотке крови животных с экспериментальным медикаментозным гипотиреозом можно сделать вывод, что прием тиреостатика сопровождается достоверным увеличением содержания ОХС, ХС ЛПНП и ОЛ в сыворотке крови. Установленный факт соответствует литературным данным, согласно которым снижение содержания тиреоидных гормонов является фактором риска развития атеросклеротического процесса. Достоверно низкое содержание ХС ЛПВП по отношению к интактному к концу эксперимента во всех группах с введением биологического материала можно объяснить тем, что нормализация липидного спектра не связана с ЛПВП-зависимым механизмом. В контрольной группе в этот период наблюдения содержание ХС ЛПВП было достоверно выше относительно групп с введением биологического материала и достигало интактного значения.

Отмена тиреостатика сопровождалась постепенной нормализацией липидного спектра в сыворотке крови животных без введения биологического материала. Введение фрагмента ксеногенной фетальной щитовидной железы к 7-м суткам способствовало более быстрому снижению содержания ОХС, холестерина атерогенной фракции липопротеидов, ОЛ и увеличению содержания холестерина антиатерогенной фракции липопротеидов в сыворотке крови. Однако к 14-м суткам после введения биологического материала отмечено увеличение содержания ОХС и ХС ЛПНП с последующим их снижением ко 2-му месяцу. Метаболизм липидов контролируется тиреоидными гормонами, поэтому можно предположить, что выявленное в течение эксперимента изменение содержания липидов в сыворотке крови связано с изменением содержания тиреоидных гормонов в сыворотке крови животных. Для подтверждения данного предположения мы провели корреляцион-

ный анализ гормонального и липидного статуса животных.

Из данных табл. 2 видно, что в большинстве случаев содержание ОХС и ХС ЛПНП коррелировало с содержанием тиреоидных гормонов. Причем в случае ОХС корреляция с общим T_4 , свободным T_4 и общим T_3 была обратной, а со свободным T_3 (наиболее биологически активная фракция тиреоидных гормонов) – прямой. В случае ХС ЛПНП наблюдалась диаметрально противоположная картина: прямая корреляция с общим T_4 , свободным T_4 и общим T_3 , а обратная – со свободным T_3 . Это еще раз подтверждает то, что недостаток тиреоидных гормонов является фактором риска развития атеросклероза.

Содержание холестерина антиатерогенной фракции липопротеидов (ХС ЛПВП) положительно коррелировало только с содержанием общего T_3 в группах с введением ЩЖ и ЩЖ в комбинации с ПЛ.

Данные корреляционного анализа не дают основания утверждать о существовании зависимости содержания триглицеридов от уровня тиреоидных гормонов, так как во всех исследуемых группах не выявлена четкая корреляция данного показателя с тиреоидным статусом экспериментальных животных. В то же время содержание ОЛ в большинстве случаев достоверно обратно коррелировало с содержанием тиреоидных гормонов.

Выводы

1. Показатели липидного спектра достоверно не коррелировали с содержанием свободной фракции T_3 . Кроме того, корреляция в большинстве случаев была противоположной аналогичным показателям для общего T_4 , свободного T_4 и общего T_3 .
2. Максимальное количество достоверных корреляций между показателями липидного спектра и содержанием тиреоидных гормонов установлено в группе с введением ЩЖ и контрольной группе.
3. Минимальное количество достоверных корреляций показателей липидного спектра с содержанием тиреоидных гормонов выявлено в группах с комбинированным введением биологического материала и плаценты. При этом выраженная нормализация показателей липидного спектра в этих группах, вероятно, связана с действием плаценты, биологически активные вещества которой способны регулировать липидный обмен.
4. Введение биологических препаратов во всех исследуемых группах приводило к более быстрой нормализации показателей липидного спектра в сыворотке крови экспериментальных животных по сравнению с контрольной, что, вероятно, обусловлено действием биологически активных веществ, содержащихся в биоматериале.

Таблица 2. Коэффициент корреляции между тиреоидными гормонами и липидами сыворотки крови экспериментальных животных

Показатели	T ₄ общий	T ₄ свободный	T ₃ общий	T ₃ свободный
Контрольная группа (n = 23)				
ОХС	-0,33 p = 0,12	-0,64 p = 0,0008	-0,16 p = 0,45	0,35 p = 0,09
ХС ЛПНП	0,48 p = 0,02	0,43 p = 0,03	0,48 p = 0,01	-0,2 p = 0,35
ХС ЛПВП	0,29 p = 0,16	0,15 p = 0,48	0,2 p = 0,33	-0,38 p = 0,06
ТГ	-0,53 p = 0,009	-0,23 p = 0,28	-0,02 p = 0,89	0,31 p = 0,14
ОЛ	-0,63 p = 0,001	-0,62 p = 0,001	-0,31 p = 0,14	0,15 p = 0,49
Введение ЩЖ (n = 21)				
ОХС	-0,63 p = 0,001	-0,72 p = 0,0002	-0,21 p = 0,35	-0,07 p = 0,74
ХС ЛПНП	0,44 p = 0,04	0,47 p = 0,03	0,51 p = 0,01	-0,19 p = 0,39
ХС ЛПВП	-0,03 p = 0,86	0,04 p = 0,85	0,51 p = 0,01	-0,18 p = 0,41
ТГ	-0,48 p = 0,02	-0,12 p = 0,6	-0,58 p = 0,005	-0,001 p = 0,99
ОЛ	-0,44 p = 0,04	-0,33 p = 0,13	-0,34 p = 0,12	-0,005 p = 0,98
Введение ЩЖ + ПЛ (n = 22)				
ОХС	-0,63 p = 0,001	-0,75 p = 0,0001	-0,19 p = 0,39	0,24 p = 0,27
ХС ЛПНП	0,27 p = 0,22	0,22 p = 0,32	0,49 p = 0,01	0,002 p = 0,99
ХС ЛПВП	-0,007 p = 0,97	0,14 p = 0,52	0,46 p = 0,03	0,15 p = 0,48
ТГ	-0,25 p = 0,24	0,34 p = 0,11	-0,46 p = 0,03	0,11 p = 0,62
ОЛ	-0,34 p = 0,11	-0,51 p = 0,01	-0,34 p = 0,11	0,04 p = 0,82
Введение ПЛ (n = 17)				
ОХС	-0,54 p = 0,02	-0,43 p = 0,08	-0,14 p = 0,58	0,05 p = 0,83
ХС ЛПНП	0,39 p = 0,11	0,46 p = 0,06	0,56 p = 0,01	-0,16 p = 0,51
ХС ЛПВП	0,16 p = 0,53	0,19 p = 0,44	0,23 p = 0,35	0,16 p = 0,52
ТГ	0,005 p = 0,98	-0,02 p = 0,93	-0,33 p = 0,18	0,02 p = 0,92
ОЛ	-0,49 p = 0,04	-0,52 p = 0,03	-0,36 p = 0,14	-0,06 p = 0,81

Литература

1. Грищенко В.И., Грищенко О.В., Лахно И.В. и др. Плацента человека как источник получения тканевых лекарств: опыт и перспективы их применения в акушерско-гинекологической практике // Вісник Асоціації акушерів-гінекологів України.– 1999.– №2.– С. 59–63.
2. Грищенко В.И., Прокопюк О.С., Кузьміна І.Ю. та інші. Заготівля, кріоконсервування плацентарної тканини та їх клінічне застосування.– Київ, 1996.– 10 с.
3. Кондаков И.И. Антиатерогенные эффекты кріоконсервированного препарата фетоплацентарного комплекса при экспериментальном атеросклерозе // Пробл. кріобиологии.– 2005.– Т. 15, №3.– С. 435–439.
4. Морозова Р.П., Козулина Е.П., Николенко И.А. и др. Плацента – источник биологически активных веществ // Укр. біохім. журн.– 1999.– Т. 74, №4. – С.21–29.
5. Чуйкова В.И., Строна В.И., Юрченко Т.Н., Строна Д.В. Влияние ксенотрансплантации фетальной щитовидной железы на липидный обмен при экспериментальном гипотиреозе // Світ медицини та біології. – 2006. – №1.– С. 57–63.
6. Чуйкова В.И., Строна В.И. Эффект действия фетальных тканей при дисфункции щитовидной железы в эксперименте // Світ медицини та біології.– 2007.– №1.– С. 81–86.
7. Чуйко В.А., Грищенко В.И., Утевский А.М. и др. Трансплантация кріоконсервированной щитовидной железы как метод лечения гипотиреоза: Метод. рекомендации.– Харьков, 1986. – 6 с.
8. Bhargava H.N., Ramarao P., Gulati A. et al. Brain and pituitary receptors for thyrotropin-releasing hormone in hypothyroid rats // Pharmacology.– 1989.– Vol. 38, N4.– P. 243–252.
9. Bianco A. C., Salvatore D., Gereben B. et al. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases // Endocr. Rev.– 2002.– Vol. 23, N1.– P. 38–89.
10. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge // Clin. Chem.– 1972.– Vol. 18, N 6.– P. 499–502.
11. Lagrost L. Regulation of cholesteryl ester transfer protein (CETP) activity: Review of *in vitro* and *in vivo* studies // Biochem. Biophys. Acta. – 1994.– Vol. 1215, N 3.– P. 209–236.
12. Ness G.C., Lopez D. Transcriptional regulation of rat hepatic low-density lipoprotein receptor and cholesterol 7 alpha hydroxylase by thyroid hormone // Arch. Biochem. Biophys.– 1995.– Vol. 323, N2.– P. 404–408.
13. Valemarsson S., Nilsson-Ehle P. Hepatic lipase and the clearing reaction: studies in euthyroid and hypothyroid subjects // Horm. Metab. Res.– 1987.– Vol. 19.– P. 28–30.

Поступила 09.08.2008